ÜBER DIE ISOMERIE DER CARBÄTHOXYLDIGLYCYLGLYCINESTER UND DIE BESTÄNDIGKEIT VON N-CARBONSÄUREN.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

GENEHMIGT

VON DER PHILOSOPHISCHEN FAKULTÄT

DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN.

ACAD. LAGOD. BAT. BIBL.

Von

Frederick B. La Forge

aus Bridgeport, Conn., U. S. A.

Tag der Promotion: 4. August 1908.

257

Referenten:
Prof. Dr. E. Fischer.
Prof. Dr. W. Nernst.

Buchdruckerei A. W. Schade, Berlin N., Schulzendorferstr. 26.

Meinem Freund Rudolf Schmitz.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533914_0150

Allgemeiner Teil.

Bei den Untersuchungen Emil Fischers über die Natur der Eiweißstoffe spielt der synthetische Aufbau der Polypeptide, d. h. der Anhydride von Aminosäuren, eine wichtige Rolle.

Eine Methode, durch die er ihre Synthese zu verwirklichen hoffte, war die folgende:

Durch Kuppelung von Carbäthoxylglycylchlorid, mit Estern der Aminosäuren, bezw. Peptide, sollten Ester entstehen, die bei der Verseifung nach allen bisherigen Erfahrungen Kohlensäure aus der Carbäthoxylgruppe abspalten und gleichzeitig Peptide bilden mußten.

Diesen Umsetzungen entsprechen die folgenden Gleichungen:

$$C_2H_5O_2CNHCH_2COCl + NH_2CH_2CO_2C_2H_5 = C_2H_5O_2CNHCH_2CONHCH_2CO_2C_2H_5 + HCl,$$

$$C_2H_5O_2CNHCH_2COCl + NH_2CH_2CONHCH_2CO_2C_2H_5 = C_2H_5O_2CNHCH_2CONHCH_2CONHCH_2CO_2C_2H_5 + HCl.$$

$$HO_2CNHCH_2CONHCH_2CO_2H = NH_2CH_2CONHCH_2CO_2H + CO_2,$$

$$HO_2CNHCH_2CONHCH_2CONHCH_2CO_2H = NH_2CH_2CONHCH_2CONHCH_2CO_2H + CO_2.$$

Während der erste Teil der Synthese ziemlich gut verläuft, erwies sich die Annahme einer Kohlensäureabspaltung als nicht richtig, denn statt der Peptide resultierten zweibasische Dicarbonsäuren, die das N-Carboxyl noch enthielten.

So lieferte Carbäthoxylglycylglycinester die Glycylglycin-*N*-carbonsäure[1]), die mit der Formel:

$$HOOCNHCH_2CONHCH_2COOH$$

und Carbäthoxyldiglycylglycinester, die Diglycylglycin-*N*-carbonsäure[2]), die mit der Formel

$$HOOCNHCH_2CONHCH_2CONHCH_2COOH$$

belegt wurde.

Aber noch in einer anderen Hinsicht sind diese Säuren bemerkenswert. Denn sie liefern bei der Veresterung mit alkoholischer Salzsäure Diester, die mit den ursprünglichen Estern isomer sind[3]).

In jüngster Zeit haben nun W. Manasse und H. Leuchs die Isomerieverhältnisse der Carbäthoxylglycylglycinester und die Ursache der Beständigkeit dieser Carbonsäuren untersucht und in folgender Weise erklärt:

Sie gingen von der Annahme aus, daß die Glycylglycincarbonsäure nicht mit der Formel

$$HOOCNHCH_2CONHCH_2COOH,$$

sondern mit

$$HOOCNHCH_2C(OH)NCH_2COOH$$

bezeichnet werden sollte, daß also während der Verseifung der ursprünglichen α-Ester eine Atomverschiebung stattfinde, in dem Sinne, daß die mittelständige .CONH-Gruppe in eine .C(OH)N-Gruppe umgewandelt werde.

Wenn nun in der mittelständigen .CONH-Gruppe das labile Wasserstoffatom durch ein Phenylradikal substituiert wäre, so wäre keine Umwandlung mehr möglich und das Auftreten einer beständigen *N*-Carbonsäure, sowie die Isomerie der Ester müßte dann ausbleiben.

Diese Annahme erwies sich als zutreffend, denn bei der Verseifung des Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycinesters spaltete sich Kohlensäure ab und es resultierte das Glycyl-*N*-Phenylglycin. Um festzustellen, ob diese Reaktion nicht eine

[1]) E. Fischer, Berichte **35**, 1095.
[2]) E. Fischer, Berichte **36**, 2094.
[3]) E. Fischer, Berichte **36**, 2094.

Folge der spezifischen Wirkung des Phenylrestes ist, habe ich den Carbäthoxylglycylsarkosinester dargestellt. Auch hier wurde durch Verseifung mit 3 äq. Bariumhydroxyd eine Abspaltung von etwa 75 % der theoretischen Menge Kohlensäure bewirkt und vermutlich Peptid gebildet.

Substituiert man dagegen in dem Carbäthoxylglycylglycinester das Wasserstoffatom der ersten .CONH-Gruppe durch Phenyl, so wird die Isomerie nicht verhindert. In diesem letzten Fall aber spaltete die Dicarbonsäure, die *N*-Phenylglycylglycincarbonsäure so leicht, unter Bildung einer Anhydrid- oder Lactonsäure, Wasser ab, daß ihre Isolierung unmöglich war und der isomere Ester nur auf dem Umwege über das Silbersalz der Dicarbonsäure, durch Einwirkung von Jodäthyl erhalten werden konnte.

Meine Untersuchungen schließen sich an diese Arbeit an und zwar habe ich versucht, meist durch ähnliche Verfahren die Isomerie der Carbäthoxyldiglycylglycinester zu erklären.

Zunächst wurde durch Einwirkung von Carbäthoxyl-*N*-Phenylglycylchlorid[1]) auf Glycylglycinester[2]) der Carbäthoxyl-*N*-Phenylglycylglycylglycinester leicht dargestellt. Dieser Ester lieferte bei der Verseifung unter den richtigen Bedingungen eine Dicarbonsäure, die, obwohl sie, wie die *N*-Phenylglycylglycincarbonsäure von Manasse[3]) sehr geneigt war, eine Lactonsäure zu bilden, doch in analysenreinem Zustand erhalten werden konnte. Aus der Dicarbonsäure aber durch Veresterung mit alkoholischer Salzsäure einen Diester zu bilden, war ausgeschlossen; denn beim Kochen mit verdünnter Salzsäure oder sogar mit Wasser wird eine Lactonsäure gebildet und mit alkoholischer Salzsäure ein Lactonester. Zur Darstellung des isomeren Esters habe ich deshalb denselben Weg eingeschlagen, auf dem Leuchs und Manasse zum Carbäthoxyl-*N*-Phenylglycylglycinester gelangten, nämlich auf dem Umwege über das Silbersalz der *N*-Phenylglycylglycincarbonsäure, das aus Lactonsäure mit 2 Molekül *n*-Natronlauge aufgespalten, durch Fällen mit Silbernitratlösung

[1]) Manasse und H. Leuchs, Berichte **40**, 3242.
[2]) E. Fischer und E. Fourneau, Berichte **34**, 2868.
[3]) Manasse und H. Leuchs, Berichte **40**, 3246.

gewonnen worden war. Der isomere β-Ester besaß aber unangenehme Eigenschaften, und da er keine Neigung zum Krystallisieren zeigte, konnte er nicht im analysenreinen Zustand erhalten werden. Die Neigung des γ-Carbäthoxyl-*N*-Phenylglycylglycinesters, durch Kochen mit alkoholischer Salzsäure in einen Lactonester überzugehen, die auch bei dem Carbäthoxyl-*N*-Phenylglycylglycylglycinester zu erwarten war, wurde zu dessen Charakterisierung und zu seiner Unterscheidung vom α-Ester vorteilhaft benutzt.

Die Darstellung des Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycylglycinesters

$$C_2H_5O_2CNHCH_2CON(C_6H_5)CH_2CONHCH_2CO_2C_2H_5$$

gelang durch Kupplung von Glykokollester mit dem Säurechlorid des Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycins, das aus dem von Manasse dargestellten entsprechenden Diester durch Verseifung mit 1 Molekül *n*-Natronlauge gewonnen worden war. Die Chlorierung des Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycins gelang nur durch Einwirkung von Phosphorpentachlorid in Acetylchloridlösung.

Ich hatte erwartet, daß dieser Ester bei der Verseifung die Kohlensäureabspaltung geben würde. Dies war aber nur teilweise der Fall, denn auch nach mehrstündigem Erhitzen mit 3 Molekül Bariumhydroxydlösung war nur etwa 30 % der theoretischen Kohlensäuremenge in Form von Bariumcarbonat ausgeschieden und auch nach fortgesetztem Erhitzen wurde kein Bariumcarbonat mehr gebildet. Die wäßrige Lösung enthielt nach dem Fällen des überschüssigen Bariumhydroxyds das Bariumsalz der Glycyl-*N*-Phenylglycylglycincarbonsäure. Durch Fällen mit Silbernitratlösung konnte das entsprechende Silbersalz gewonnen und analysiert werden. Diese Tatsachen lassen sich leicht erklären, wenn man annimmt, daß die Atomverschiebungen CONH in C(OH)N nicht nur an der CONH-Gruppe, die in meinem Falle durch Phenyl stabilisiert ist (in γ- und α-Stellung zum *N*-Carbäthoxyl), sondern auch an der anderen Lactamgruppe stattfinden kann und stattfinden muß. Demnach entspricht die Diglycylglycincarbonsäure oder Formel:

$$HO_2CNHCH_2C(OH)NCH_2C(OH)NCH_2CO_2H.$$

Daß überhaupt Kohlensäure abgespalten wird, läßt sich damit erklären, daß der α-Ester gleichzeitig der Umlagerung der CONH-Gruppe in C(OH)N und der Verseifung unterliegt.

Als sekundäre Reaktionen erfolgen dann noch die Abspaltung der Kohlensäure aus dem verseiften, nicht umgelagerten Produkt so wie die Verseifung des umgelagerten Esters. Jene beiden Vorgänge verlaufen allerdings mit sehr ungleicher Geschwindigkeit, im vorliegenden Fall verhalten sie sich wie 7 : 3 und die Geschwindigkeit der Umlagerung scheint durch die Gegenwart der $CON(C_6H_5)$-Gruppe verzögert. Immerhin habe ich festgestellt, daß auch bei der Verseifung des Carbäthoxylglycylglycinesters die Reaktion teilweise im Sinne der direkten Verseifung verläuft. Ich habe bei dessen Verseifung in der oben beschriebenen Weise mit 3 Äquiv. Bariumhydroxyd eine Abspaltung von etwa 4 % der theoretischen Kohlensäuremenge bewirkt, der eine Bildung von 4 % Peptid entsprechen müßte. Die Geschwindigkeiten verhalten sich hier wie 4 : 96. Jedoch sieht man, daß auch in diesem Falle theoretisch eine Darstellung von Peptiden möglich ist. Diese wäre im Gegensatz zu der früher geäußerten Meinung eine allgemein gültige, wenn sie auch ohne praktische Bedeutung ist.

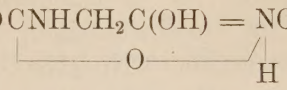
Um eine vollständige Abspaltung der Kohlensäure zu bewirken, müssen die beiden labilen Wasserstoffatome am N durch Phenylradikale ersetzt sein. Hierzu wurde durch Kuppelung von Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycylchlorid und *N*-Phenylglycinester, Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycyl-*N*-Phenylglycinester dargestellt. Da dieser Ester nicht in krystallisiertem Zustand gewonnen werden konnte, wurde er durch Verseifung mit 1 Mol. Alkali in das Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycyl-*N*-Phenylglycin

$$C_2H_5O_2CNHCH_2CON(C_6H_5)CH_2CON(C_6H_5)CH_2COOH$$

umgewandelt. Diese Verbindung konnte in krystallisiertem und reinem Zustand erhalten werden. Bei ihrer Verseifung mit 3 Molekülen *n*-Natronlauge wurde fast alle Kohlensäure abgespalten, wie durch Fällen mit Bariumchloridlösung quantitativ nachgewiesen wurde. Das gebildete Peptid zeigte aber sehr unangenehme Eigenschaften. Mit Aceton gerieben,

wurde er körnig, zerfloß aber sofort an der Luft. Nach mehreren erfolglosen Versuchen ein krystallisiertes Derivat von ihm zu machen, mußte ich von seiner Reinigung absehen.

Als Grund für die Beständigkeit der Glycylglycincarbonsäure nimmt Manasse die Bildungen eines inneren Salzes an und stellte für die Säure die Formel:



auf.

Ich schreibe seine Beständigkeit lieber einer starken Ionisation zu, die durch die Umlagerung bedingt wird.

Daß es zwei völlig verschiedene Glycylglycincarbonsäuren gibt, läßt sich nicht bezweifeln. Die zweite, die unbeständige, ist die von M. Siegfried[1]) in Form ihres Bariumsalzes aus Glycylglycin durch Einleiten von Kohlensäure in seine Bariumhydroxydlösung, und gleichzeitig von H. Leuchs[2]) dargestellt worden. Seitdem hat M. Siegfried[3]) gezeigt, daß nicht nur die NH_2-Gruppe, sondern auch die NH-Gruppe des Glycylglycins bis zu einem gewissen Grade mit Kohlensäure bei Gegenwart von Baryt reagiert. Das Bariumsalz der von E. Fischer dargestellten Glycylglycincarbonsäure gibt aber keine Reaktion mit Kohlensäure. Die Resultate dieser Versuche weisen auch darauf hin, daß in der beständigen Dicarbonsäure die Gruppe CONH nicht mehr vorhanden ist und bestätigen die von H. Leuchs und W. Manasse gefundenen Resultate. Ein Bariumsalz einer unbeständigen Diglycylglycincarbonsäure ist, so viel ich weiß, noch nicht dargestellt worden.

---

[1]) M. Siegfried, Berichte **39**, 399.

[2]) H. Leuchs, Berichte **39**, 861.

[3]) M. Siegfried und H. Liebermann, Ztschr. für physiol. Chemie **54**, 439.

Praktischer Teil.

Carbäthoxyl-*N*-phenylglycylglycylglycinester, $C_2H_5O_2CN(C_6H_5)CH_2CONHCH_2CONHCH_2CO_2C_2H_5$.

Zu einer Chloroformlösung von 10 g (2 Mol.) Glycylglycinester[1]) wurde unter Abkülung in Eiswasser eine ätherische Lösung von Carbäthoxyl-*N*-phenylglycylchlorid[2]) aus 67 g (1 Mol.) Säure dargestellt, allmählich zugegeben. Die Hauptmenge des Glycylglycinesterhydrochlorats fiel während der Reaktion krystallinisch aus. Ob die neue Verbindung mit ausfällt, hängt von der Menge des Chloroforms ab. Der Äther wurde dann abgedampft und auf dem Wasserbad auch die Hauptmenge des Chloroforms. Dann wurde abgekühlt und mit viel Äther versetzt, wobei die beiden Reaktionsprodukte krystallinisch ausfielen. Das Gemisch wurde mit etwa 75 ccm Benzol in der Wärme extrahiert, dann noch zweimal mit kleineren Mengen; aus den vereinigten Auszügen krystallisierte der neue Ester in Form sehr kleiner, weißer Krystalle, die die ganze Lösung breiartig erfüllten. Ihre Menge betrug 7,1 g oder 62,3 % der Theorie. Dreimal aus Benzol umkrystallisiert, zeigte der Ester den Schmp. 135—136° (unkorr.). Für die Analyse wurde er über Paraffin im Vakuum getrocknet.

0,1620 g Sbst.: 0,3316 g CO_2, 0.0970 g H_2O.
0,1260 g Sbst.: 12,9 ccm N (758 mm, 17°).

[1]) E. Fischer und E. Fourcau, Berichte **34**, 2868.
[2]) W. Manasse und H. Leuchs, Berichte **40**, 3239.

Ber. für $C_{17}H_{23}O_6N_3$:	Gefunden:
C 55,89	55,82 %
H 6,30	6,64 »
N 11,51	11,79 »

Eigenschaften:

Der Ester ist in Chloroform, Aceton, Eisessig und Alkohol sehr leicht löslich, schwerer in Benzol in der Kälte, schwer in Wasser, fast unlöslich in Äther und Petroläther.

Carbäthoxyl-*N*-phenylglycylglycin,
$C_2H_5O_2CN(C_6H_5)CH_2CONHCH_2CONHCH_2CO_2H$.

3,4 g Glycylglycin[1]) (1 Mol) wurden in 26 ccm (1 Mol) *n*-Natronlauge gelöst und unter Kühlen in einer Kältemischung abwechselnd eine ätherische Lösung von 6,2 g (1 Mol) Carbäthoxyl-*N*-phenylglycylchlorid[2]) und 39 ccm ($1^1/_2$ Mol) *n*-Natronlauge in kleinen Mengen zugegeben. Die wäßrige Lösung wurde im Scheidetrichter vom Äther getrennt, mit 39 ccm *n*-Salzsäure versetzt und zweimal mit Äther ausgeschüttelt. Die wäßrige Schicht wurde dann bei 40° im Vakuum zur Trockne verdampft und der Rückstand öfters mit Essigester aufgekocht. Nach dem Einengen der Auszüge fiel beim Abkühlen und Stehen die neue Verbindung aus. Ausbeute nur 25 % der Theorie. Andere Versuche unter anderen Bedingungen gaben keine besseren Resultate. Aus dem ätherischen Auszug der sauren Lösung wurde 2,1 g Carbäthoxyl-*N*-phenylglycin zurückgewonnen, das beim Einleiten von Ammoniak in die Lösung als Ammoniumsalz auskrystallisierte. Für die Analyse wurde die Säure dreimal aus Essigester umgelöst, wonach sie den Schmp. 141—145° (unkorr.) zeigte. Statt Glycylglycin kann man auch Glycinanhydrid, durch *n*-Natronlauge aufgespalten, verwenden.

0,1421 g Sbst.: 0,2793 g CO_2, 0,0757 g H_2O.

0,1046 g Sbst.: 11,05 ccm N (750 mm, 17°).

[1]) E. Fischer und E. Fourneau, Berichte **34**, 2868.

[2]) W. Manasse und H. Leuchs, Berichte **40**, 324.

Ber. für $C_{15}H_{19}O_6N_3$:	Gefunden:
C 53,41	53,61 %
H 5,63	5,92 »
N 12,46	12,58 »

Eigenschaften:

Die Verbindung ist in Eisessig sehr leicht löslich; leicht in Alkohol, Methylalkohol und Aceton, etwas schwerer in Essigester; in Benzol, Äther, Chloroform und Ligroin ist sie so gut wie unlöslich; in heißem Wasser ist sie löslich.

N-Phenylglycylglycylglycincarbonsäurelakton,

$$\underset{\text{O}}{\underbrace{OCN(C_6H_5)CHC}}:NCH_2C(OH)NCH_2CO_2H.$$

1 g Carbäthoxyl-*N*-phenylglycylglycylglycin wurde mit 5,8 ccm (2 Mol) *n*-Natronlauge eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, mit 5,8 ccm *n*-Salzsäure versetzt und mit etwa 30 ccm Wasser verdünnt; dann etwa 10 Minuten mit 5—6 ccm verdünnter Salzsäure gekocht. Beim Abkühlen schied sich das Lacton in langen Nadeln aus, die die ganze Flüssigkeit breiartig erfüllten. Ausbeute 0,68 g oder 80 % der Theorie.

Für .die Analyse wurde das Lacton aus Wasser umgelöst.

0,1460 g Sbst.: 0,2883 g CO_2, 0,0617 g H_2O.
0,0887 g Sbst.: 10,83 ccm N (786 mm, 20°).

Ber. für $C_{13}H_{13}O_5N_3$:	Gefunden:
C 53,61	53,84 %
H 4,47	4,70 »
N 14,43	14,38 »

Eigenschaften.

Das Lacton schmilzt bei 208—209°; es ist in Eisessig leicht löslich, schwer in Alkohol, Essigester und Aceton, fast unlöslich in kaltem Wasser; in Benzol, Chloroform und Ligroin ist es fast unlöslich.

N-Phenylglycylglycylglycincarbonsäure-lactonester,

$$OCN(C_6H_5)CH_2C = NCH_2C(OH)NCH_2CO_2C_2H_5.$$
(Lactonbrücke: O zwischen OC und C(OH))

1,5 g Lactonsäure wurden mit 20 ccm alkoholischer Salzsäure 5 Minuten über freier Flamme aufgekocht. Beim Abkühlen krystallisierte der Ester aus. Mit Alkohol gewaschen und über Natronkalk getrocknet wog das Produkt 1,15 g. Aus der Mutterlauge wurde durch Einengen noch 0,31 g gewonnen. Im Ganzen also 1,46 g oder 89 % der Theorie. Zweimal aus Alkohol umkrystallisiert, zeigte der Ester den Schmelzpunkt 178—179° (unkorr.).

0,1731 g Sbst.: 0,3590 g CO_2, 0,0838 g H_2O.
0,1117 g Sbst.: 12,25 ccm N (16°, 771 mm).

Ber. für $C_{15}H_{17}N_3O_5$:		Gefunden:
C	56,42	56,56 %
H	5,33	5,57 »
N	13,16	12,91 »

Eigenschaften.

Der Ester ist in Eisessig, Aceton und Chloroform sehr leicht löslich, schwerer in Essigester, schwer in kaltem Wasser und in Benzol; fast unlöslich in Äther und Petroläther.

N-Phenylglycylglycylglycincarbonsäure,

$$HO_2CN(C_6H_5)CH_2C(OH)NCH_2C(OH)NCH_2COOH.$$

Bei der Verseifung des Carbäthoxyl-N-Phenylglycylglycylglycins bezw. N-Phenylglycylglycylglycinesters hängt es von den Bedingungen ab, ob man Lactonsäure oder Dicarbonsäure erhält. Säuert man nach der Verseifung mit viel Salzsäure an und kocht man lange, so erhält man die langen Nadeln des Lactons. Säuert man dagegen nur schwach an, kocht man nur kurze Zeit und kühlt dann schnell ab, so krystallisieren ausschließlich perlmutterglänzende Blättchen aus 5 g Carbäthoxyl-N-phenylglycylglycylglycinester wurden eine Stunde mit 30,1 ccm (1,1 Mol.) n-Natronlauge auf dem Wasserbad erwärmt. Die Lösung wurde dann mit 100 ccm

Wasser verdünnt, zum Kochen gebracht, mit 10 ccm verdünnter Salzsäure angesäuert und eine Minute im Sieden erhalten. Beim raschen Abkühlen fiel die Säure in glänzenden Blättchen aus. Ausbeute 1,6 g oder 40 % der Theorie. Mit Wasser gewaschen und getrocknet schmilzt die Säure bei 208—209°. Sie zeigt also denselben Schmelzpunkt wie die Lactonsäure, und da sie sehr geneigt ist, in diese überzugehen, findet die Umwandlung sicher im Capillarröhrchen statt. Für die Analyse diente die Substanz, die mit Wasser gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet war.

0,1986 g Sbst.: 0,3682 g CO_2, 0,0910 g H_2O.
0,1095 g Sbst.: 12,85 ccm N (19°, 774,5 mm).

Ber. für $C_{13}H_{15}O_6N_3$:		Gefunden:
C	50,48	50,57 %
H	4,85	5,08 »
N	13,59	13,68 »

Eigenschaften.

Die Dicarbonsäure geht beim Kochen mit Wasser oder verdünnter Salzsäure in Lactonsäure über. Aus einer wäßrigen Lösung fällt beim Stehen Lactonsäure aus.

Das Silbersalz der Dicarbonsäure.

3 g Lactonsäure wurden eine Stunde auf dem Wasserbade mit 20,6 ccm (2 Mol.) *n*-Natronlauge erwärmt. Es waren dann, wie durch Titration festgestellt wurde, 20,1 ccm *n*-Natronlauge zur Aufspaltung verbraucht. Dann wurde in der Kälte mit 5 ccm $^1/_{10}$-*n*. Salpetersäure schwach angesäuert und das aus der Natronlauge stammende Natriumchlorid durch Fällen mit 10 ccm $^1/_{10}$-*n*. Silbernitratlösung entfernt. Nach Filtrieren und Kühlen in Eiswasser wurden 35 ccm (2 Mol.) 10-prozentige Silbernitratlösung zugegeben. Das Silbersalz fiel sofort als weißer, flockiger Niederschlag aus. Nach zweistündigem Stehen bei 0° wurde es abfiltriert, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und nach dem Pressen auf Ton im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ausbeute 70—75 % der Theorie. Um das Salz vollkommen trocken zu haben,

empfiehlt es sich, es im Vakuum über Phosphorpentachlorid beim Siedepunkt des Alkohols zu trocknen.

0.0810 g so getrocknetes Salz gaben nach dem Glühen: 0,0334 g Ag.

Ber. für $C_{13}H_{13}N_3O_6Ag_2$:		Gefunden:
Ag	41,30	41,21 %

β-Carbäthoxyl-*N*-phenylglycylglycyl-glycinester,

$C_2H_5O_2C(C_6H_5)CH_2C(OH)NCH_2C(OH)NCH_2CO_2C_2H_5$.

2,5 g des oben beschriebenen Silbersalzes wurden in 100 ccm absolutem Alkohol suspendiert, 1,6 g (2,2 Mol.) Jodäthyl zugegeben und 10 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Dann wurde von Jodsilber abfiltriert und die Lösung im Vakuumexsiccator eingedampt. Es blieb ein zähes, fast farbloses Öl zurück, das nicht zum Krystallisieren gebracht werden konnte. Seine Menge betrug 1,5 g oder 90 % der Theorie. Das Öl ist sehr leicht löslich in Alkohol, Benzol, Aceton und Essigester, last unlöslich in Wasser, Äther und Petroläther. Mit alkoholischer Salzsäure gekocht wird der Diester glatt in Lactonester verwandelt.

1 g Diester wurde mit 10 ccm alkoholischer Salzsäure eine halbe Stunde auf dem Wasserbad gekocht. Beim Abkühlen fiel der Lactonester krystallinisch aus. Seine Menge betrug 0,77 g oder 90 % der Theorie. Von diesem Ester wurde nach dem Umkrystallisieren aus Essigester eine Stickstoffbestimmung ausgeführt.

0,1141 g Sbst.: 13,2 ccm N (22°, 766 mm).

	Berechnet:	Gefunden:
N	13,16	13,13.

Der so gewonnene Ester zeigte keinen Unterschied von dem Produkt, das aus Lactonsäure und alkoholischer Salzsäure gewonnen war.

Carbäthoxylglycyl-*N*-phenylglycin,

$C_2H_5O_2CNHCH_2CON(C_6H_5)CH_2CO_2H$.

23 g des nach der Vorschrift von W. Mannasse und H. Leuchs dargestellten Carbäthoxylglycyl-*N*-phenylglycin-

ester[1]) wurden mit 84 ccm (1,1 Mol.) *n*-Natronlauge 2 Stunden auf der Maschine geschüttelt, wobei völlige Lösung eingetreten war. Dann wurden im Scheidetrichter 84 ccm *n*-Salzsäure zugegeben, wodurch die neue Verbindung als hellgelbes Öl abgeschieden wurde. Es wurde rasch mit wenig Äther ausgeschüttelt und die ätherische Lösung, ohne zu trocknen, in Eiswasser abgekühlt. Die Krystallisation tritt sofort ein und nach 4—5 Stunden war fast die ganze Menge ausgeschieden. Ausbeute 90 % der Theorie. Für die Analyse wurde die Säure aus Benzol umkrystallisiert und sie zeigte dann den Schmelzpunkt 133—134° (unkorr.).

0,1268 g Sbst.: 0,2588 g CO_2, 0,0665 g H_2O.
0,1033 g Sbst.: 9,1 ccm N (23°, 764 mm).

Ber. für $C_{13}H_{16}O_5N_2$:		Gefunden:
C	55,61	55,65 %
H	5,71	5,82 »
N	10,00	9,94 »

Eigenschaften.

Die Säure ist in Wasser in der Wärme schwer löslich und fällt beim Abkühlen ölförmig aus. In Alkohol, Essigester, Chloroform ist sie sehr leicht löslich; in Benzol in der Wärme schwer, in der Kälte fast unlöslich, in Äther, ölförmig leicht, krystallisiert fast unlöslich; in Petroläther so gut wie unlöslich.

Carbäthoxylglycyl-*N*-phenylglycylglycinester, $C_2H_5O_2CNHCH_2CON(C_6H_5)CH_2CONHCH_2CO_2C_2H_5$.

2 g Carbäthoxylglycyl-*N*-phenylglycin wurden mit 15 ccm frisch dargestelltem Acetylchlorid übergossen, auf 0° abgekühlt und 1,5 g (1,1 Mol.) Phosphorpentachlorid zugegeben. Beim Schütteln bei 0° ging bald alles in Lösung. Nach etwa 15 Minuten wurde das Acetylchlorid bei 0° im Vakuum abdestilliert und zur Entfernung des Phosphoroxychlorids längere Zeit im Vakuum auf 30° erwärmt. Nach 2 Stunden

[1]) W. Mannasse und H. Leuchs, Berichte **40**, 3239.

wurde die Temperatur allmählich auf 50° gesteigert. Das zurückbleibende Öl wurde in etwa 15 ccm absolutem Äther aufgenommen und diese ätherische Lösung des Säurechlorids sofort mit einer ebensolchen von 2 g (3 Mol.) Glykocollester unter Abkühlung in Eiswasser allmählich in Reaktion gebracht. Ein weißer Niederschlag setzte sich sofort ab. Nach einigem Stehen wurde mit wenig gasförmiger Salzsäure der überschüssige Glykocollester in das salzsaure Salz umgewandelt. Der Niederschlag, der ein Gemenge von diesem Salz und dem neuen Ester ist, wurde abfiltriert und zur Abtrennung des neuen Esters mit 10 ccm Chloroform extrahiert. Die Chloroformlösung wurde vom Glykocollesterchlorhydrat abfiltriert und nach dem Einengen mit Äther versetzt. Der neue Ester fiel zunächst ölförmig aus, krystallisierte aber sehr leicht beim Reiben. Seine Menge betrug 1,5 g oder 50 % der Theorie. Statt mit Chloroform von salzsaurem Glykocollester zu trennen, kann man ebenso gut Wasser verwenden. Für die Analyse wurde zweimal aus Benzol umkrystallisiert. Der Ester schmilzt bei 142—143° (unkorr.) zu einer klaren Flüssigkeit und wird beim Abkühlen wieder krystallinisch.

0,1804 g Sbst.: 0,3698 g CO_2, 0,1018 g H_2O.
0,1917 g Sbst.: 18,9 ccm H (19°, 764 mm).

Ber. für $C_{17}H_{23}O_6N_3$:		Gefunden:
C	55,89	55.91 %
H	6,30	6,26 »
N	11,51	11,33 »

Eigenschaften:

Der Ester ist außer in Chloroform in Alkohol sehr leicht löslich, weniger leicht in Essigester, in Äther ist er sehr schwer und in Petroläther fast unlöslich. Er krystallisiert schön aus heißem Wasser in Form von großen Säulen, die oft eine Länge von 1 cm erreichen.

Verseifung des Carbäthoxylglycyl-*N*-phenylglycylglycinesters mit Barytlösung.

1 g Ester wurde mit 24,3 ccm 0,34-*n*. (3 äq.) Barytlösung 3 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. (Das Erhitzen wurde

in einem Kolben vorgenommen, dem ein Rohr mit Natronkalk aufgesetzt war.) Ein geringer Niederschlag von Bariumcarbonat, der entstanden war, wurde nicht abfiltriert, sondern die Lösung wurde sofort in der Wärme mit Kohlensäure gesättigt. Das Baryumcarbonat wurde nun abfiltriert, die Lösung auf etwa 5 ccm auf dem Wasserbade eingeengt und etwa 40 ccm Alkohol zugegeben, wobei das Baryumsalz als nicht deutlich krystallinische, körnige Masse sich ausschied. Abfiltriert und im Vakuum getrocknet wog das Produkt 0,9 g oder 75 % der Theorie. Das Salz wurde in 3 ccm Wasser Wasser gelöst und nochmals mit Alkohol gefällt. Das im Vakuum zur Konstanz getrocknete Präparat verliert im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 100° etwa 1 Molekül Wasser.

0,2960 g Sbst. verloren: 0,0116 g H_2O.

Ber. für $BaC_{13}H_{13}O_6H_3 + H_2O$:		Gefunden:
H_2O	3,89	3,91 %.

Die Analyse gab keine scharfen Zahlen.

0,1350 g Sbst.: 0,0664 g $BaSO_4$.

Berechnet:		Gefunden:
Ba	30,85	28,81 %.

Bessere Resultate lieferte das Silbersalz der Glycyl-*N*-Phenyl-Glycylglycincarbonsäure.

Zu einer Lösung von Baryumsalz in 3 ccm Wasser, das aus 0,5 g Ester entstanden war, wurde die berechnete Menge Silbernitratlösung bei 0° zugegeben. Das Silbersalz fiel sofort als weißer, voluminöser Niederschlag aus. Man dekantierte möglichst viel von dem Wasser und wusch so lange mit frischen Portionen, bis das Waschwasser keine Reaktionen mehr auf Baryum gab. Dann wurde das Salz auf Ton gepreßt und 12 Stunden im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.

0,1493 g Sbst.: 0,0616 g Ag.

Ber. für $C_{13}H_{13}O_6N_3Ag_2$:		Gefunden:
Ag	41,30	41,25 %.

Um die Kohlensäuremenge, die bei der Verseifung des Esters entsteht, zu bestimmen, wurden 2 g Ester mit 3 äq. Barytlösung in der oben beschriebenen Weise verseift; nachdem die Ausscheidung von Baryumcarbonat beendigt war, wurde abfiltriert und der Niederschlag getrocknet. Seine Menge betrug 0,3154 g oder 29,6 % der Theorie.

Carbäthoxyglycyl-*N*-phenylglycyl-*N*-phenylglycinester,

$C_2H_5O_2CNHCH_2CON(C_6H_5)CH_2CON(C_6H_5)CH_2CO_2C_2H_5$.

5 g Carbäthoxylglycyl-*N*-phenyl-glycin wurden in der schon beschriebenen Weise mit Phosphorpentachlorid in Acetylchloridlösung chloriert. Das entstandene Säurechlorid in etwa 30 ccm absolutem Äther aufgenommen und die ätherische Lösung mit einer Lösung von 9,5 g (3 Mol.) Phenylglycinester[1]) in etwa 40 ccm absolutem Äther bei 0° zur Reaktion gebracht. Phenylglycinesterchlorhydrat setzte sich sofort als weißer, klebriger Sirup ab, der beim Reiben und Abkühlen krystallisierte. Der neue Ester befand sich in der ätherischen Lösung zusammen mit Phenylglycinester. Die ätherische Lösung wurde zur Entfernung vom Phenylglycinester mit etwa 50 ccm verdünnter Salzsäure (aus einem Teil konzentrierter Salzsäure und 4 Teilen Wasser) zwei Stunden auf der Maschine geschüttelt. Das Schütteln wurde noch zweimal mit Salzsäure wiederholt und schließlich einmal mit Wasser. Die ätherische Lösung wurde dann, ohne zu trocknen, verdampft, und das zurückbleibende Öl längere Zeit zur Konstanz im Vakuum getrocknet. Die Masse wurde hart und leimartig, ließ sich aber nicht krystallisiert erhalten. Die Menge dieses Produkts betrug 3,5 g oder 45 % der Theorie.

Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycyl-*N*-phenylglycin,

$C_2H_5O_2CNHCH_2CON(C_6H_5)CH_2CON(C_6H_5)CH_2CO_2H$.

3 g des oben beschriebenen Carbäthoxylglycyl-*N*-Phenylglycyl-*N*-phenylglycinesters wurden in etwa 8 ccm Alkohol

[1]) C. H. Bischoff, A. Hausdorfer, Berichte **25**, 2270 [1892].

gelöst und der alkoholischen Lösung 9 ccm *n*-Natronlauge (1,2 Mol.) zugefügt. Nach dreistündigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur wurde kurze Zeit die Temperatur auf 40° gehalten. Dann wurde mit 9 ccm *n*-Salzsäure versetzt, wobei sich die neue Verbindung als hellbraunes Öl ausschied, das beim Abkühlen bald krystallinisch erstarrte. Die Masse wurde auf Ton gebracht, abgepreßt und im Vakuum getrocknet. Zur Reinigung wurde das Produkt aus Essigester umgelöst. Die Verbindung fällt sehr langsam aus der Essigesterlösung in Form von sehr kleinen zu Kugeln vereinigten Krystallen. Die Ausbeute an diesem reinen Produkt betrug 2 g. Dies Produkt enthielt 1 Molekül Krystallwasser.

0,2017 g Sbst. zur Konstanz im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur über Schwefelsäure getrocknet, verloren im Alkoholbad über Phosphorpentoxyd 0,0092 g H_2O.

Ber. für $C_{21}H_{23}N_3O_6 + H_2O$:		Gefunden:
H_2O	4,18	4,56 %

Für die Analyse wurde die Säure noch einmal aus Essigester umkrystallisiert und im Alkoholbad zur Konstanz getrocknet.

0,1322 g wasserfreie Sbst.: 0,2943 g CO_2, 0,0693 g H_2O.
0,1256 g Sbst.: 11.2 ccm N (20°, 774 mm).

Ber. für $C_{21}H_{23}N_3O_6$:		Gefunden:
H	5,56	5,82 %
C	61,01	60,72 »
N	10,17	10,34 »

Der Körper schmilzt im Capillarrohr bei raschem Erhitzen bei 128 130° (unkorr.).

Eigenschaften:

In Wasser ist er sehr schwer löslich, leicht in Alkohol und Aceton; schwer in Benzol und Äther, in der Kälte schwer in Essigester und in Petroläther fast unlöslich.

Verseifung des Carbäthoxylglycyl-*N*-phenylglycyl-*N*-phenylglycins.

0,49 g wurden in 3,5 ccm *n*-Natronlauge in einem Kolben, dem ein Rohr mit Natronkalk aufgesetzt war, gelöst und 4 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurden der heißen Lösung 2 ccm 2 *n*-Bariumchloridlösung zugegeben, das gebildete Bariumcarbonat abfiltriert und mit heißem Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen im Dampfschrank wog der Niederschlag 0,1942 g oder 86,7 % der Theorie.

Carbäthoxylglycylsarkosinester.

$C_2H_5O_2CNHCH_2CON(CH_3)CH_2CO_2C^2H_5$.

6 g Carbäthoxylglycin[1]) wurden mit Thionylchlorid chloriert und nach dem Abdampfen von überschüssigem Säurechlorid mit 40 ccm absolutem Äther aufgenommen. Diese Lösung wurde mit einer solchen von Sarkosinester[2]) in 100 ccm Äther, die aus 18 g Sarkosinchlorhydrat bereitet war, bei 0° in Reaktion gebracht. Sarkosinesterchlorhydrat setzte sich als weißer, krystallinischer Brei ab, während die ätherische Lösung den neuen Ester enthielt. Sie wurde auf etwa 40 ccm eingeengt und in Eiswasser abgekühlt. Dabei krystallisierte der neue Ester in langen Nadeln, die häufig eine Länge von 3–4 cm erreichten. Seine Menge betrug 6 g oder 60 % der Theorie. Für die Analyse wurde er noch einmal aus wenig Äther umgelöst und über Schwefelsäure getrocknet.

0,1265 g Sbst.: 0,2253 g CO_2, 0,0816 g H_2O.
0,1490 g Sbst.: 14,8 ccm N (17°, 756 mm).

Ber. für $C_{10}H_{18}O_5N_2$:		Gefunden:
C	48,77	48,59 %
H	7,31	7,16 »
N	11,34	11,42 »

Eigenschaften:

Der Ester ist in Wasser, Alkohol, Aceton und Essigester spielend leicht löslich; in Äther in der Wärme leicht, schwer

[1]) E. Fischer, Berichte **36**, 2106.
[2]) E. Fischer, Berichte **34**, 433.

in der Kälte; in Petroläther ist er fast unlöslich. Der Schmelzpunkt liegt bei 54 – 55°.

Verseifung des Carbäthoxylglycylsarkosinesters.

1 g Ester wurde in einem Kolben mit Natronkalkrohr versehen, mit 36 ccm n-1/3 Barytlösung (3 äq.) auf dem Wasserbad erwärmt. Die Abscheidung des Bariumcarbonats begann sofort und nach 3 Stunden war die Reaktion beendet. Der Niederschlag wog nach dem Trocknen bei 100° 0,604 g, demnach waren 75,4 % der berechneten Kohlensäuremenge frei geworden. Nach Fällen des überschüssigen Baryts mit Kohlensäure wurde die Lösung im Vakuum zur Trockne eingedampft. Es blieb eine harte, glasartige Masse zurück, die jedenfalls das als zweites Spaltprodukt gebildete Peptid darstellt, und auch nach ihren Eigenschaften als dieses angesehen werden muß. Da es jedoch nicht krystallisierte, wurde von der weiteren Untersuchung abgesehen.

Verseifung des Carbäthoxylglycylglycinesters[1]) mit Barytlösung.

0,5 g Ester wurden mit 3 äq. Barytlösung 2 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Die Lösung fing sofort an sich zu trüben und nach 2 Stunden waren 0,016 g Bariumcarbonat ausgeschieden, was 3,77 % der Theorie entspricht. Während des Versuches wurde der Kolben gegen die Kohlensäure der Luft durch ein aufgesetztes Natronkalkrohr geschützt.

[1]) E. Fischer und E. Fourneau, Berichte **34**, 2868.

Der praktische Teil der vorliegenden Arbeit wurde von Anfang November 1906 bis März 1908 im Chemischen Institut der Universität Berlin ausgeführt.

Hrn. Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Emil Fischer gestatte ich mir für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse meinen besten Dank auszusprechen.

Hrn. Dr. H. Leuchs fühle ich mich für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für seine liebenswürdige Unterstützung während ihrer Ausführung zu ganz besonderem Dank verpflichtet.

Lebenslauf.

Ich, Frederick Burr La Forge, konfessionslos, bin am 12. März 1882 zu Bridgeport, Conn., Ver. Staaten von Amerika, geboren, als Sohn des Bauführers Marcus La Forge. Daselbst besuchte ich die öffentlichen Schulen von meinem siebenten bis zum fünfzehnten Jahre, studierte dann 4 Jahre an der „Wesleyan Academy“ zu Wilbraham, Mass., indem ich mich auf die Universität vorbereitete. Im Herbst 1901 bestand ich das Zulassungsexamen und wurde an der „Princeton-University“ zu Princeton, N. J., immatrikuliert. Nach vierjährigem Studium wurde mir daselbst der Grad eines „Bachelor of Science“ erteilt.

Seit Michaelis 1905 bin ich an der Königlichen Universität hierselbst immatrikuliert. Am 20. Juli 1906 bestand ich das organische Verbandsexamen und am 9. Juli 1908 meine Promotionsprüfung.

Während meines Aufenthaltes in Berlin besuchte ich die Vorlesungen und Übungen der folgenden Herren Professoren:

E. Fischer, Drude, Nernst, Wichelhaus, Riehl und Rubens.

Allen diesen meinen hochverehrten Lehrern bin ich zu großem Dank verpflichtet.